






## Cuantificación de cafeína, utilizando como fluorosensor puntos cuánticos de carbono Caffeine quantification, using carbon quantum dots (CQDs) as a fluorosensor

B. Arredondo-Martínez <sup>a</sup>, J. Juárez-Gómez <sup>a,\*</sup>, D.S. Guzmán-Hernández <sup>b</sup>, M.T. Ramírez-Silva <sup>a</sup>  
 A. Rojas-Hernández <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1era Sección, Alcaldía Iztapalapa, 09310, Ciudad de México, México.

<sup>b</sup> CONACYT-Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 09310, Ciudad de México, México.

### Resumen

Los puntos cuánticos de carbono son una especie de nuevos nanomateriales y como su nombre lo indica, están basados en carbono, donde las fuentes naturales que se utilizan para la síntesis son ricas en grupos funcionales orgánicos que permiten la funcionalización de la superficie durante el proceso y que, a su vez, presentan propiedades luminiscentes. La síntesis de estos materiales se realizó mediante la carbonización de *Hibiscus sabdariffa*, también conocida como flor de Jamaica. La síntesis es rápida y de bajo costo, además amigable con el medio ambiente debido a que se utiliza agua como solvente. El objetivo de esta investigación se basa en aprovechar las propiedades ópticas de las nanopartículas para la cuantificación indirecta de cafeína en muestras reales a través de la inhibición de su fluorescencia. Las disoluciones de puntos cuánticos mostraron una respuesta lineal del recíproco del porcentaje de fluorescencia remanente en función de la concentración de cafeína en el sistema. Esta tendencia podría permitir la cuantificación de cafeína en muestras reales. Los parámetros de desempeño de la curva de calibración fueron: LOD = 1.670 mg·L<sup>-1</sup>, LOQ = 5.566 mg·L<sup>-1</sup>, LOL = (5.6 – 20.0) mg·L<sup>-1</sup>, sensibilidad = (8.63 ± 0.29) × 10<sup>-4</sup> mg<sup>-1</sup>·L.

**Palabras Clave:** cafeína, puntos cuánticos, nanopartículas, curva de calibración.

### Abstract

The carbon quantum dots (CQDs) are a kind of new nanomaterials and as their name indicates, they are based on carbon, where the natural sources that are used for the synthesis are rich in functional groups that allow the functionalization of the surface during the process and which, in turn, has luminescent properties. The synthesis of CQDs was carried out by carbonization of *Hibiscus sabdariffa*, also known as Jamaican flower. The synthesis is fast and inexpensive, as well as friendly to the environment because water is used as a solvent. The objective of this research is to take advantage of the optical properties of nanoparticles for the indirect quantification of caffeine in real samples through the inhibition of its fluorescence. The performance parameters of the calibration curve were LOD = 1.670 mg·L<sup>-1</sup>, LOQ = 5.566 mg·L<sup>-1</sup>, LOL = (5.6 – 20.0) mg·L<sup>-1</sup>, sensitivity = (8.63 ± 0.29) × 10<sup>-4</sup> mg<sup>-1</sup>·L.

**Keywords:** caffeine, CQDs, nanoparticles, calibration curve.

### 1. Introducción

El término punto cuántico (quantum dot en inglés) es un término relativamente nuevo y se utiliza para identificar materiales de escala nanométrica con interesantes y muy variadas aplicaciones. Este nombre se acuñó para nanopartículas con diámetros menos a 10 nm ya que estos materiales presentan propiedades distintas a materiales de mayor tamaño (Rojas-Valencia *et al.*, 2021).

Dentro del mundo de los puntos cuánticos, en los últimos años, destacan los de carbono ya que han demostrado propiedades eléctricas y ópticas muy interesantes.

Los puntos cuánticos basados en carbono pueden clasificarse en tres grandes grupos: puntos cuánticos de grafeno, nanopuntos de carbono y puntos de polímero (Rivera-Álvarez *et al.*, 2020).

El abanico de aplicaciones para los puntos cuánticos es amplio, sin embargo, hay preocupación por el efecto en la

\*Autor para la correspondencia: jjg85@xanum.uam.mx

Correo electrónico: janstaint@gmail.com (Brandon Arredondo-Martínez), jjg85@xanum.uam.mx (Jorge Juárez-Gómez), dsguz@conacyt.mx (Dafne Sarahia Guzmán-Hernández), mtrs218@xanum.uam.mx (María Teresa Ramírez-Silva), suemi918@xanum.uam.mx (Alberto Rojas-Hernández)

salud y el ambiente con el uso y los desechos de estos materiales que incluyen iones metálicos como  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  así como algunos no metales como  $\text{As}^{3-}$ ,  $\text{Se}^{2-}$ , y  $\text{Te}^{2-}$  considerados tóxicos. (Hardman *et al.*, 2005). He aquí el interés en alternativas menos peligrosas, como lo son los puntos cuánticos a base de carbono. Existe un gran progreso en la comunidad científica que busca sustituir los puntos cuánticos inorgánicos por puntos cuánticos de carbono que puedan proveer similares propiedades con síntesis sencillas, a bajo costo, usando precursores ampliamente disponibles, con fácil manejo de desechos, menor toxicidad y mayor biocompatibilidad, para el uso en áreas de medicina y energía principalmente y para este caso, utilizado como fluorosensor para la detección de cafeína por el método de fluorescencia (Filali-Samira *et al.*, 2020).

Los puntos cuánticos de carbono preparados por métodos hidrotérmicos y solvotérmicos se funcionalizan con varios tipos de grupos superficiales, especialmente grupos carboxilo e hidroxilo relacionados con el oxígeno, lo que imparte una excelente solubilidad en agua sin modificación adicional de la superficie (Su *et al.*, 2019). Una de las grandes bondades de los puntos cuánticos de carbono es que se puede utilizar cualquier fuente de carbono para su síntesis y es por ello que se ha utilizado material orgánico tan fácil de conseguir como flores de Jamaica, cáscaras de cualquier fruta, ajo, cebolla y un sin fin de otras materias primas.

La cafeína por si sola, no presenta propiedades fluorescentes, por lo que es imposible realizar un análisis cuantitativo por espectroscopía de fluorescencia; sin embargo, al poner en contacto una solución acuosa de la cafeína con los puntos cuánticos los fotones emitidos por las nanopartículas pueden ser absorbidos por las moléculas de cafeína y, por lo tanto, inhibir su fluorescencia.

## 2. Experimental

### 2.1. Materiales

Cafeína >99% obtenida de Sigma-Aldrich, agua desionizada obtenida de un equipo Milli-Q modelo 110 V/60HZ-CR, 18.2 M $\Omega$  cm (Darmstadt, Germany), fluorómero marca Perkin-Elmer modelo LS45/55.

### 2.2. Síntesis de puntos cuánticos

La síntesis se realizó según lo reportado por Rojas-Valencia *et al.*, 2021. Se pesaron 5.0 g de flor de Jamaica secas dentro de un crisol y se carbonizaron a 400 °C durante 4 horas. Las cenizas se dejaron reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente, se molieron hasta obtener un polvo fino y se agregaron a 30 mL de agua desionizada, la emulsión fue de color negro y esta misma se centrifugó durante 30 minutos a 4000 RPM. Finalmente, la emulsión fue filtrada y la solución acuosa de puntos cuánticos (SI) se almacenó en frascos ámbar a temperatura ambiente.

## Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestran las disoluciones de los puntos cuánticos de carbono antes y después de ser irradiados con luz ultravioleta. Se observa que cuando se perturba la disolución

con fotones de luz UV las nanopartículas presentan el fenómeno de fluorescencia.

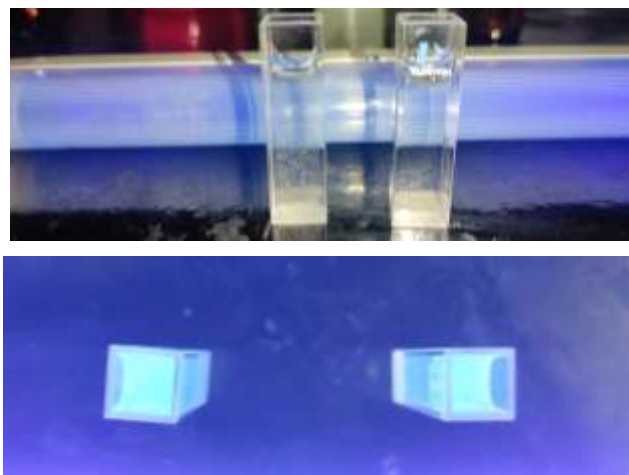


Figura 1: Disoluciones de puntos cuánticos antes (arriba) y al ser irradiados (abajo) con luz ultravioleta.

### 3.1. Espectros de emisión de los puntos cuánticos en presencia de cafeína.

En la Figura 2 se muestran los espectros de emisión de los puntos cuánticos sin cafeína y en presencia de cafeína (en concentración de 20 mg·L<sup>-1</sup> = 20 ppm), donde se observa que la presencia de la molécula de cafeína inhibe la fluorescencia de los nanomateriales. El espectro de color azul muestra la intensidad de fluorescencia como función de la longitud de onda, para una solución acuosa de puntos cuánticos; en tanto que el espectro color rojo es el espectro de emisión para la misma solución de puntos cuánticos, pero en presencia de cafeína. Se observa que el sistema que contiene cafeína disminuye su fluorescencia aproximadamente en un 60%. Por lo tanto, las nanopartículas sintetizadas pueden servir como fluorosensor para la determinación indirecta de cafeína en muestras reales.

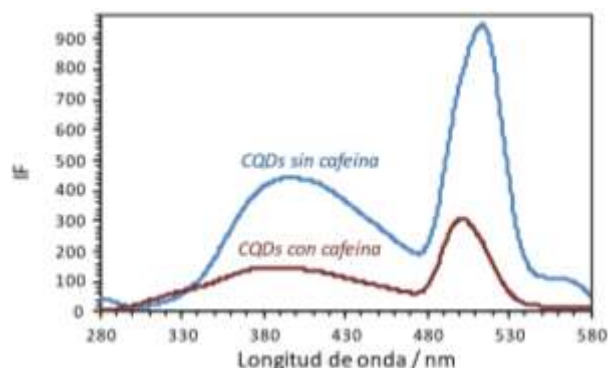


Figura 2: Espectros de emisión de los puntos cuánticos en presencia y en ausencia de cafeína ( $\lambda_{\text{exc}}=254$  nm).

En la Figura 3 se presenta una familia de espectros de emisión de los puntos cuánticos a diferentes concentraciones de cafeína. Se preparó una solución madre de cafeína 100 ppm en agua desionizada, y cada sistema fue preparado agregando en un matraz volumétrico, 500  $\mu\text{L}$  de la solución de puntos

cuánticos (S1) y una alícuota de la solución madre de cafeína (0, 100, 300, 600, 900, 1200, 1500 y 2000  $\mu\text{L}$ ) y aforando a 10 mL con agua desionizada. Se observa que la intensidad de fluorescencia de las nanopartículas disminuye conforme aumenta la concentración de cafeína en la solución.

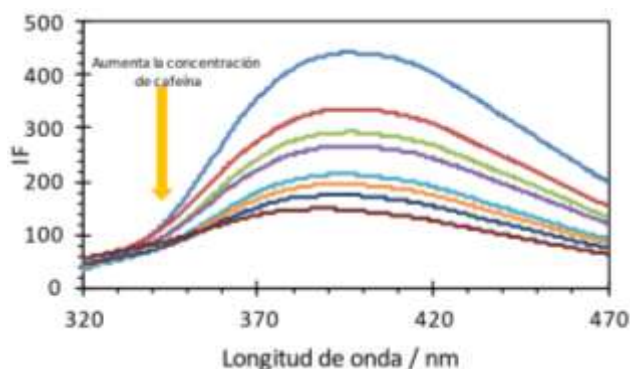


Figura 3: Espectros de emisión de los puntos cuánticos para diferentes concentraciones de cafeína ( $\lambda_{\text{excitación}}=254 \text{ nm}$ ).

A continuación, en la Tabla 1 se muestran las intensidades de fluorescencia para cada sistema y se tabula también el porcentaje de fluorescencia remanente de las nanopartículas que resulta de la interacción de los puntos cuánticos con la cafeína, a diferentes concentraciones.

Tabla 1: Intensidad de fluorescencia (IF) y porcentaje de la intensidad de fluorescencia (%IF) de emisión de los puntos cuánticos para diferentes concentraciones de cafeína, a la longitud de onda de 389nm.

$C_{\text{cafeína}} / \text{ppm}$	$IF^{389}$	$\%IF^{389}$
0	436.8	100
1	333.0	76.2
3	290.5	66.5
6	264.2	60.5
9	212.3	48.6
12	194.5	44.5
15	173.7	39.8
20	148.4	34.0

Los resultados de la Tabla 1 se muestran en la Figura 4. Se observa una tendencia lineal del recíproco del porcentaje de intensidad de fluorescencia conforme aumenta la concentración de cafeína. Los parámetros de desempeño de esta curva de calibración fueron:

$LOD= 1.670 \text{ ppm}$ ,  $LOQ= 5.566 \text{ ppm}$ ,  $LOL= (5.6 - 20.0) \text{ ppm}$ ,  $\text{sensibilidad}= (8.63 \pm 0.29) \times 10^{-4} \text{ ppm}^{-1}$ , una ordenada al origen de  $(0.01219 \pm 0.00023)$  y una desviación estándar de la regresión de 0.00048.

### 3.2. Espectros de emisión de los puntos cuánticos en presencia de una bebida comercial.

Ya que se demostró que se pueden aprovechar las propiedades ópticas de los puntos cuánticos, al entrar en contacto con una muestra real que contiene cafeína. Se observa que la IF también disminuye al agregar una alícuota de la

bebida energizante, lo que podría permitir un análisis cuantitativo de cafeína sin necesidad de una extracción líquido-líquido utilizando cloroformo para separar la cafeína de las bebidas, como se indica en la Norma Oficial Mexicana 218–SSA1–2011.

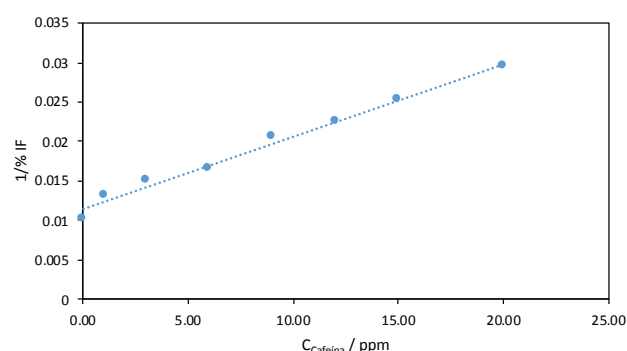


Figura 4: Recíproco del porcentaje de fluorescencia remanente en función de la concentración de cafeína.

En la Figura 5 se muestran los espectros de emisión de la solución de puntos cuánticos en un experimento de adiciones patrón de cafeína añadida a una muestra real de una bebida energizante (Volt®)

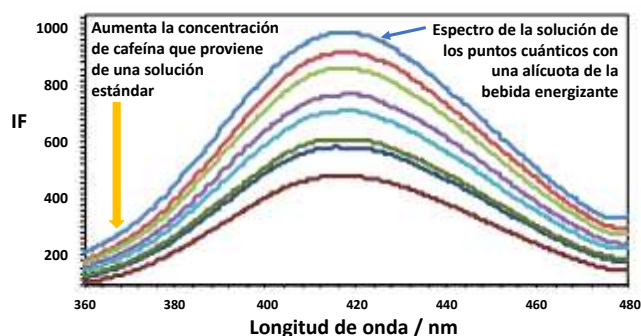


Figura 5: Espectros de emisión de puntos cuánticos a una alícuota de la bebida energizante comercial (marca Volt®) diluida a la que se agrega cafeína proveniente de una solución estándar. Se hizo la excitación a una longitud de onda de 254 nm.

Los espectros de emisión de los puntos cuánticos tienen menor fluorescencia al aumentar la concentración de cafeína que proviene de una solución estándar que se va agregando a una muestra constante de la bebida energizante (Volt®). Esto permite hacer el análisis de cafeína a la longitud de onda de emisión que podría estar entre 380 y 460 nm.

## 4. Conclusiones

Se comprobó que las nanopartículas de carbono presentan propiedades fluorescentes que permiten un análisis cuantitativo de cafeína en bebidas energizantes, siendo también un proceso amigable con el medio ambiente y efectivo. La intensidad de fluorescencia de los puntos cuánticos de carbono disminuye en función de la concentración de cafeína. Además, es un procedimiento amigable con el medio ambiente ya que se utiliza agua como solvente. Se comprobó que la síntesis de las nanopartículas es reproducible, por lo que es una alternativa fácil y barata para la determinación de cafeína. Aun se debe realizar un esquema de validación de esta nueva metodología que podría mejorar la

manera en la que se realizan los análisis de cafeína en la industria, sin la necesidad de utilizar solventes que dañan tanto la salud como el medio ambiente.

### Agradecimientos

DSGH y MTRS agradecen a CONACYT por la cátedra 2159. ARH, DSGH, JYG y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático concedido.

### Referencias

- Filali-Samira, S., Fabrice, P., Pierre, M. (2020). Biological applications and toxicity minimization of semiconductor quantum dots. *Trends in biotechnology* 38, 163-177.  
DOI: 10.1016/j.tibtech.2019.07.013
- Hardman, R. (2005). A Toxicologic Review of Quantum Dots: Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors. *Environmental Health Perspectives*. 114, 165.  
DOI: 10.1289/ehp.8284
- Norma Oficial Mexicana. (2011). Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba. NOM-218-SSA1-2011.
- Rivera-Álvarez, A., Quesada-Ramírez A., Vega-Baudrit J. Paniagua S.A. (2022). Síntesis, propiedades y aplicaciones de puntos cuánticos a base de carbono. *Afinidad LXXIX*, 595, 188.  
<https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/397321>
- Rojas-Valencia, O.G., Regules-Carrasco, M., Hernández-Fuentes, J., Reza-San, C.M., Estrada-Flores, M., Vollagarcía-Chávez, E. (2021). Synthesis of blue emissive carbon quantum dots from Hibiscus Sabdariffa flower: Surface functionalization analysis by FT-IR spectroscopy. *Materialia* 19, 101182.  
DOI: 10.1016/j.mtla.2021.101182
- Su, W., Hao, W., Huimin, X., Yunchao, L., Xiaohong, L., Louzhen, F. (2020). Carbon dots: a booming material for biomedical applications. *Materials Chemistry Frontiers* 16, 821-836.  
DOI: 10.1039/C9QM00658C